Aus dem Institut für Pathologie
des Universitätsklinikums Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
Ärztl. Direktor: Prof. Dr. med. S. Blümcke

Morphologische Untersuchungen zur Letalität nach einmaliger parenteraler Anwendung des Perfluorkohlenwasserstoffes Fluosol-DA 20 % bei Kaninchen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Schmidt
aus Berlin

1985

Aus dem Institut für Pathologie
des Universitätsklinikums Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
Ärztl. Direktor: Prof. Dr. med. S. Blümcke

Morphologische Untersuchungen zur Letalität nach einmaliger parenteraler Anwendung des Perfluorkohlenwasserstoffes Fluosol-DA 20% bei Kaninchen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Schmidt
aus Berlin

[illegible]

Aus dem Institut für Pathologie
des Universitätsklinikums Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
Ärztl. Direktor: Prof. Dr. med. S. Blümcke

Morphologische Untersuchungen zur Letalität nach einmaliger parenteraler Anwendung des Perfluorkohlenwasserstoffes Fluosol-DA 20 % bei Kaninchen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Schmidt
aus Berlin

3.1.1 Kontrolltiere
3.1.2 Versuchstiere
3.2 Hämatokrit, Fluorokrit

4. Diskussion
4.1 Die pulmonalen Veränderungen als Todesursache
4.2 Ätiologie der Strukturveränderungen
4.3 Pathogenese der Veränderungen

5. Zusammenfassung

6. Literatur

Danksagung

Lebenslauf

1.Einleitung

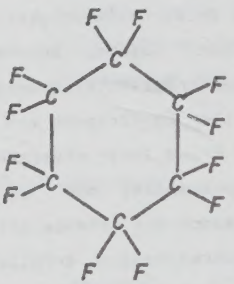
1.1 Bedeutung sauerstofftransportierender Blutsubstitute

Blutverlusten wird in der Klinik gegenwärtig mit Transfusionen oder der Gabe von Plasmaexpandern begegnet. Die Problematik der Bluttransfusionen liegt einerseits in der Aufwendigkeit des Verfahrens und den damit verbundenen hohen Kosten, andererseits in den möglicherweise auftretenden Unverträglichkeitsreaktionen zwischen Spender und Empfänger und potentieller Übertragung von Krankheiten.
Plasmaersatzflüssigkeiten sind auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften (meist Gelatine- oder Dextranpräparate) nur in der Lage als Volumenersatz zu fungieren, ohne jedoch die lebenswichtige Funktion der reversiblen Gasbindung annähernd ausreichend zu erfüllen.
Daher sind seit Jahren intensive Forschungen angestellt worden, mit dem Ziel, Substanzen zu finden, die die Rolle der Erythrozyten weitgehend übernehmen können.
Die Schwerpunkte liegen dabei gegenwärtig bei den stromafreien Hämoglobinlösungen und den Fluorocarbonen.
Die ursprünglich für technische Zwecke hergestellten Fluorocarbone (Perfluorochemicals = PFC) stellen durch ihre hohe Sauerstoffbindungsfähigkeit einen wichtigen Schritt zur Lösung dieses Problems dar, und sind - seit Clark et al. (1966) ihre Verwendung bei Säugetieren demonstrierten - Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen.

1.2 Eigenschaften und Kinetik der Fluorocarbone

Fluorocarbone sind Kohlenwasserstoffe, deren H-Atome vollständig durch Fluor substituiert sind, und die z.T. noch Sauerstoff- oder Stickstoffatome im Molekül enthalten. Es sind chemisch inerte, wasserunlösliche, farblose Substanzen hoher Dichte und geringer Oberflächenspannung. Die größte Bedeutung erlangten bisher Perfluorodecalin und Perfluorotripropylamin (s. Abb. 1), beides

Bestandteile des hier untersuchten Fluosol-DA 20%. D
Sauerstoffbindungsvermögen dieser Substanzen zeigt eine z
Sauerstoffpartialdruck lineare Korrelation, während die O
Bindungskurve des Hämoglobins einen sigmoidalen Verlauf aufweist.



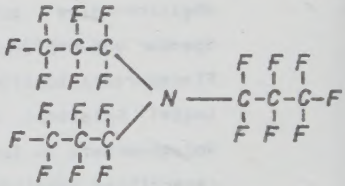
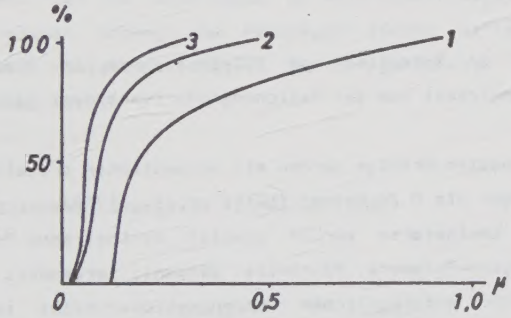


Abb. 1: Perfluorodecalin (FDC) Perfluorotripropylamin (FTPA)

Bei dem normalerweise in den Alveolen herrschend
Sauerstoffpartialdruck von 1oo mm Hg werden vom Blut 2o Vol%
aufgenommen, von Fluosol-DA 20% dagegen nur etwa 2 Vol%. Um d
Sauerstoffmenge, die physiologischerweise bei Partialdruckdifferenz
von 50 mm Hg zwischen venösem und arteriellem Schenkel vom Bl
aufgenommen bzw. abgegeben werden kann, bei FDA 20% annähernd
erreichen, sind Partialdruckdifferenzen von 500 mm Hg erforderlich.
Ein ausreichender Sauerstofftransport von den Lungen zur Peripherie i
daher nur möglich, wenn der Partialdruck des O_2 in den Alveolen ho
genug ist. Für FDA 20% wäre dies bei 95% O_2 in der Atemluft der Fa
(Naito et al.,1978). Die Transportkapazität für CO_2 liegt für d
Fluorocarbone um den Faktor 3-4 über der für Sauerstoff.
Durch ihre Wasserunlöslichkeit würden die fluorierten Ko
lenwasserstoffe bei intravenöser Applikation sofort Embolie
provozieren. Sie müssen daher zusammen mit geeigneten Emulgator
verabreicht werden, die eine Dispersion in Teilchen mit geeignet

Größe gewährleisten und die Emboliegefahr verhindern.
Vielfach wurde auf den Zusammenhang zwischen Partikelgröße und Toxizität der Substanzen hingewiesen (Naito et al., 1978, Lüdtke-Handjery, 1977, Fujita et al., 1973 u.a.m.). Einerseits würden Teilchen über Erythrozytengröße die Kapillaren verstopfen und darüberhinaus schneller aus dem Blut eliminiert weden als kleinere (Geyer et al., 1968, Geyer, 1973), andererseits erhöht sich die Viskosität mit Abnahme der Teilchengröße (s. Abb. 2, 3, Tab. 1).



Probe	Anteil der Partikel > 0,4 μ	LD_{50} g/kg 72 Std
1	25 %	11,5
2	3 %	27,0
3	0	30,3

Abb. 2, Tab. 1 : Beziehung zwischen Partikelgröße und akuter Toxizität bei drei verschieden zusammengesetzten Proben von FC-43 bei Ratten (verändert nach Fujita et al., 1971)

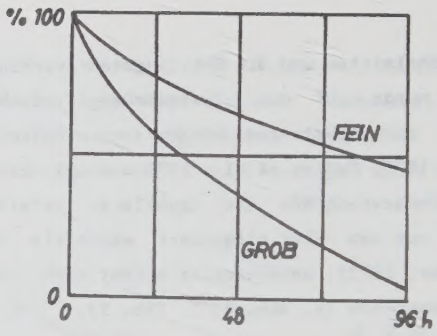


Abb. 3: Retention von PFC-Emulsionen im Blut von Kaninchen i
Abhängigkeit von der Teilchengröße (verändert nach Naito et al., 1981)

Die besten Erfolge wurden mit Suspensionen erzielt, deren Partikelgröß
weniger als 0,2µ betrug (Naito et al., 1978).
Als Emulgatoren werden zumeist synthetische Polyoxyäthylen-Polyoxy
propylen-Polymere, Pluronics genannt, verwendet. Diese wirken in de
hierfür erforderlichen Konzentrationen nicht toxisch und rufen auc
keine Hämolyse hervor.
Darüberhinaus finden Eiphosphorlipide zur Emulgierung Verwendung, di
leicht im Körper metabolisiert werden. Zusätzlich wirken dies
Substanzen durch ihren onkotischen Druck als Plasmaexpander. Di
vollständige Zusammensetzung von Fluosol-DA 20% zeigt Tabelle 2.
Auf Grund ihrer chemischen Inertheit dürften die Fluorocarbone de
Körper ohne Verstoffwechselung verlassen. Dies geschieht nahez
ausschließlich über die Lunge (Dampfdruck für FDC bei 37°C 12,7 m
Hg, für FTPA 18,5 mm Hg) und zu einem geringen Teil über Gallenwege un
Schweißdrüsen.
Eine Ausscheidung über den Urin konnte nicht nachgewiesen werden. I
bestimmten Geweben des Retikuloendothelialen Systems, so vor allem i
Leber und Milz, werden sie bevorzugt abgelagert. Elektronenoptisch is
dies durch das Auftreten von PFC-speichernden Schaumzellen belegt
(u.a. Pfannkuch et al., 1979). FDC ist jedoch gaschromatographisch nur
bis zu 4 Wochen nach Applikation einer Dosis von 4g/kg Körpergewicht

bei Mäusen nachweisbar (Naito et al., 1978). Für FTPA liegt dieser Zeitraum höher, da Lutz und Metzenauer (1980) dafür eine Halbwertzeit von 53,6 Tagen ermittelten. Kitazawa et al. (1982) konnten bei quantitativen Analysen noch zwei Jahre nach Verabreichung von FDA 0,27% der maximal erreichten Speicherung in der Milz feststellen.

Bei der mikroskopischen Begutachtung ist gespeichertes Fluosol im Gewebe nicht direkt zu erkennen, da es im Lauf der histologischen Aufarbeitung durch die Verwendung von Alkohol gelöst und ausgewaschen wird. Man kann daher nur die Vakuolen als Äquivalente dieser Substanzen darstellen. Daß es sich dabei um Fluorocarbon-Speicherungsphänomene handelt wiesen Schnoy und Pfannkuch (1980) mittels wellenlängendispersiver Röntgenmikroanalyse im Gefrierschnitt am Rasterelektronenmikroskop nach.

Tab. 2: Zusammensetzung von Fluosol-DA 20%

	Gew.%	Funktion
Perfluorodecalin	14,0	O_2, CO_2 Transport
Perfluorotripropylamin	6,00	O_2, CO_2 Transport
Pluronic F 68	2,70	Emulgator, onk. Druck
Eiphospholipide	0,40	Emulgator, onk. Druck
Glycerin	0,80	Emulgator, onk. Druck
Hydroxyäthylstärke	3,00	kolloidosm. Druck
NaCl	0,60	essent. Ion, osm. Druck
KCl	0,34	essent. Ion, osm. Druck
$MgCl_2$	0,02	essent. Ion, osm. Druck
$CaCl_2$	0,03	essent. Ion, osm. Druck
$NaHCO_3$	0,21	Pufferkapazität
Glucose	0,18	Energiequelle

(verändert nach Geyer, 1981)

3.3 Gegenwärtiger Erkenntnisstand zur Anwendung von Fluorocarbonen bei Kaninchen und anderen Spezies

Seit Anfang der siebziger Jahre sind eine große Anzahl von Arbeiten über Tierversuche mit PFC erschienen. Diese wurden vorwiegend an Ratten, aber auch an Fröschen, Hamstern, Hunden, Katzen, Schweinen, Affen und Kaninchen vorgenommen. Die Publikationen über Kaninchen sind dabei nicht sehr zahlreich. 1970 veröffentlichten Sloviter et al. eine Arbeit zum Problem der rasch fortschreitenden Anoxie als Reaktion auf intravenöse PFC-Gaben (hier mit FX-80), die unter anderem auch an Kaninchen beobachtet wurden. Er verwies in diesem Zusammenhang auf eine Abnahme der Anzahl der Thrombozyten und folgerte, daß multiple Mikroembolien die Lungen erreichten und schließlich zum Rechtsherzversagen führten.

In Experimenten an Neuseeländer-Kaninchen wurde durch Beobachtung der Mikrozirkulation des Omentum eine Konstriktion der Arteriolenwände, Endothelschäden und ebenfalls Blutzellaggregationen als Reaktion auf FC-43 Gabe gezeigt (Endrich et al., 1979, 1980).

Zu ähnlichen Ergebnissen führten Untersuchungen von Colman et al. (1980) über FC-80: Läsionen der Lungen, Thrombozytopenie und Erhöhung des pulmonalen Gefäßwiderstandes . Aus diesen Erscheinungen folgerte auch er, daß es zu Plättchenaggregationen kommt, die sich in den Lungenkapillaren festsetzen. Vercellotti et al. (1982) beschreiben eine Aktivierung des Complementsystems durch FDA 20% bei Neuseeländer Kaninchen (und in einem Fall nach Verabreichung zur Substitution hoher Blutverluste eines 67-jährigen Patienten) die durch Corticosteroid-Gabe jedoch gebremst werden konnte.

Elektronenoptische Untersuchungen zeigten das Auftreten von sog. Schaumzellen in der Lunge nach FDA-Gabe, die nach einigen Versuchstagen gemäß Ohnishi et al. (1980) Kapillaren embolisieren sollten. Schnoy und Pfannkuch zeigten an Ratten, daß diese Zellen Makrophagen mit Fluorocarbon-Speicherung sind (1980). Die Gefahr, daß es durch diese Schaumzellen zu Embolien kommt, besteht nach Ohnishi et al. (1980) auch noch 120 Tage nach Verabreichung des FDA.

Die akute Toxizität wurde bei Kaninchen für Fluorocarbon-22 bestimmt.

Bei einer 30-minütigen Exposition lag die LD_{50} in diesen Versuchen bei einer Konzentration von 30% im Inhalationsgas. Der Reihe nach traten folgende Intoxikationserscheinungen auf: Taumeln, Schwäche der Vorderbeine, Hinfallen, Ausfluß einer mukösen Flüssigkeit aus Mund und Nase, Mydriasis, heftige Bewegungen von Körper und Extremitäten, Zyanose. Als Todesursache wurde eine respiratorische Insuffizienz angenommen (Sakata et al., 1981).

Viele der in der Vergangenheit aufgetretenen Schwierigkeiten bei Versuchen mit PFC wurden z.T. auf Verunreinigungen in den verwendeten Substanzen zurückgeführt (Naito et al., 1978, Pabst, 1977). Mit neuen Herstellungsverfahren, die Tetrafluoräthylen als Ausgangsprodukt verwenden, lassen sich Reinheitsgrade von über 99% erreichen, so daß diese Problematik für die Zukunft gelöst zu sein scheint (Le Blanc, Riess, 1982).

In Untersuchungen, die sich am eventuellen Einsatz in der Klinik orientierten, wurden unreif geborene Kaninchen durch PFC-Flüssigatmung am Leben erhalten (Schwieler et al., 1976). Im Vergleich zu mit gasförmigem Sauerstoff oder mit Luft beatmeten Tieren zeigte sich eine geringere Ausprägung von Schäden des Bronchialepithels, sowie das Fehlen hyaliner Membranen.

Bei Kaninchenfeten des 28. oder 29. Gestationstages konnten postnatale Hypoxien mit verschiedenen Fluorocarbonen partiell kompensiert werden (Czekelius, 1981).

Abgetrennte Extremitäten von Kaninchen zeigten durch Fluosol- 43 Perfusion vor der Replantation später am Tier höhere arterielle Blutdrucke, geringere zirkulierende K^+-Mengen und ein stabileres Säure-Basen Gleichgewicht (Tauber et al., 1981).

1.4 Fragestellung und Hypothesen dieser Untersuchung

Bei der Anwendung der standardisierten Substanz Fluosol-DA 20% liegt eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Arbeiten vor. Angaben über tödliche Zwischenfälle bei Kaninchen liegen in der

Literatur nicht vor.
Beschriebene Schwierigkeiten dieser Art traten bei anderen PFC auf ur
waren, wie oben erwähnt, zu einem großen Teil auf verunreinigte
Ausgangsmaterial zurückzuführen (Naito et al., 1978, Pabst, 1977)
Andere Zwischenfälle wurden durch die mitunter hohen Dampfdrucke diese
Fluorocarbone verursacht und führten zu Gasembolien und letale
pulmonalen Schäden (Clark et al., 1970, Le Blanc, Riess, 1982, Slovite
et al., 1969).
Auch die unter 1.3 beschriebenen Thrombozytenaggregationen fanden nich
unter FDA 20% Einwirkung statt. Weiterhin müssen hyperergisch
Reaktionen als mögliche Todesursache in Erwägung gezogen werden.
Ziel dieser Untersuchung war es, zu zeigen, ob ein Zusammenhan
zwischen der hohen Letalität und diesen Faktoren zu erkennen ist
Außerdem bestand die Frage, ob eine Milzexstirpation, und damit di
Herausnahme des für PFC wichtigsten Speicherorgans,eine Bedeutung fü
das Weiterleben der Tiere hat.

1.4.1 Direkte Toxizität von Fluosol-DA 20%

Wie oben besprochen, zeigten Fujita et al. (1973) und Geyer (1975), da
es einen direkten Zusammenhang zwischen dem Teilchendurchmesser und de
Toxizität von Fluorocarbonen gibt. Dabei beruhte die Schädigung au
einer Occlusion der Kapillaren durch die Teilchen selbst.
Grünert et al. (1981) beobachteten in Versuchen an Schweinen mit FDA
20% partielle Verschlüsse der Lungenkapillaren durch stark
vakuolenhaltige Makrophagen, die mit den PFC-haltigen Schaumzelle
anderer Autoren identisch sein dürften. Für bei Magenresektione
gegebenes Fluosol-DA 20% werden Blutdruckerhöhungen und Erweiterunge
der Pulmonalgefäße beschrieben (Nishimura et al., 1982).
Ein direkt toxischer Effekt auf Endothelzellen wurde von Endric
(1979), allerdings für FC-43, aufgezeigt, der in der gleichen Arbeit
arterielle Konstriktionen und Blutzellaggregationen als Folge de
Fluorocarbon-Gabe beschreibt.
Heinsen et al. (1980) erwähnen hämorrhagische Lungeninfarkte, als deren

kausales histologisches Korrelat transparente PFC-Tröpfchen im Gefäßlumen auftreten. Auch hier wurde FC-43 verwendet.

1.4.2 Hyperergische Reaktionen

Allergische Reaktionen auf FDA 20% sind nicht beschrieben worden. Lutz et al. (1980) zeigten aber, daß durch die Beanspruchung des RES durch PFC-Phagozytose eine erhöhte Letalität im Endotoxinschock auftrat.
Um dies hier als Todesursache auszuschließen, mußte auf Schockzeichen geachtet werden. Ein etwaiger protrahierter Schock als versuchsbedingte Ursache war durch Kontrollgruppenvergleiche zu untersuchen.

1.4.3 Gasembolien

Auf Grund ihres relativ hohen Dampfdruckes führten einige der früher verwendeten PFC zu Gasembolien. Dabei bestanden erhebliche Unterschiede in der Reagibilität einzelner Tierspezies. Ratten, Hamster, Kaninchen, Katzen und Hunde starben nach wenigen Stunden mit abnorm veränderten Lungen; Mäuse und Frösche überlebten einige Tage (Sloviter et al., 1969, 1970). Ein Faktor, der die Überlebenszeit stark beeinflußt, ist dabei die jeweilige Körpertemperatur.
Obgeich die hier verwendeten PFC niedrigere Dampfdrucke haben, mußte auf die histologischen Korrelate von Gasembolien geachtet werden.

1.4.4 Perfusionsstörungen durch Thrombozytenaggregate

Die bereits oben erwähnten Arbeiten von Sloviter et al. (1970) ergaben, daß in diesen Versuchen nicht mechanische Blockierungen der Kapillaren durch PFC-Partikel den Blutfluß in der pulmonalen Strombahn verminderten und zum Rechtsherzversagen führten. Ebenso konnten diese Erscheiungen nicht auf die Freisetzung von Serotonin oder Histamin zurückgeführt werden.
Durch die Abnahme der Thrombozytenanzahl, die jedoch nicht von Veränderungen der Fibrinkonzentration begleitet war, folgerten die Autoren, daß multiple Plättchenembolien in der Lunge zum Exitus führten. 1980

wiesen noch einmal Colman et al. auf diese Erscheinung bei Kaninche
hin. Bei Ratten zeigten sie, daß die Plättchenanzahl bereits 5 Min
nach PFC-Injektion sinkt.
Bei menschlichen Thrombozyten beschrieben diese Autoren darüberhinau
eine Verringerung der Gestaltsveränderungen, die in vitro durch AD
oder Thrombin induziert wurde.

2. Material und Methode

2.1 Fluorocarbone

Verwendet wurde Fluosol-DA 20%, Chargen-Nr. 037GD, Herstellungsdatum 5.1. 1982 (Hersteller: The Green Cross Corporation, 1-47, Chuch 1-Chome, Joto-Ku, Osaka, Japan. Vertrieb für Deutschland: Fa. Pfrimmer, 8500 Erlangen, Hofmannstr. 27).

2.2 Tierversuche

2.2.1 Versuchsplanung

Es wurden fünf Versuchsgruppen aufgebaut (s.a. Abb. 4)

Gruppe 1
Versuchsgruppe. Zehn Tage nach Milzexstirpation, während der eine Leberbiopsie entnommen wurde, gab man diesen Tieren nach Entnahme von 30 ml Blut 60 ml FDA. Tötung nach vier Wochen. (16 Tiere)

Gruppe 2
Veruchsgruppe. Dieser Gruppe wurde die Milz belassen. Sie erhielt Fluosol nach dem Schema von Gruppe 1 und wurde nach vier Wochen getötet. (15 Tiere)

Gruppe 3
Versuchsgruppe. Zehn Tage nach Blutentnahme und FDA-Gabe wie in Gruppe 1 wurden die Tiere splenektomiert, die Leber punktiert, und dann vier Wochen nach der FDA-Injektion getötet. (12 Tiere)

Gruppe 4
Kontrollgruppe. Den Kaninchen wurde 30 ml Blut entnommen und 60 ml NaCl injiziert. Vier Wochen später wurden sie getötet. (4 Tiere)

Gruppe 5

Kontrollgruppe. Diesen Tieren wurde die Milz entfernt. Zehn Tage danach wurde auch ihnen 30 ml Blut abgenommen und 60 ml NaCl injiziert. Nach weiteren vier Wochen wurden sie getötet. (3 Tiere)

Nach der Sektion wurden Lunge ,Leber und, soweit dies nicht schon bei der Exstirpation geschah, Milz gewogen.

Vor dem Töten der Tiere wurden Hämatokrit und Fluorokrit bestimmt.

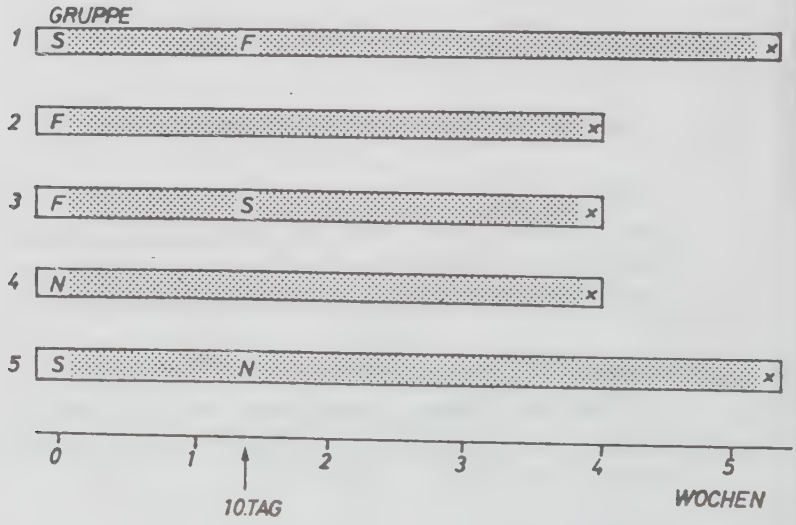


Abb. 4: Versuchsplan (S= Splenektomie, F= Fluosol-Gabe, N= NaCl-Gabe, X= Versuchsende)

2.2.2 Tiere

Bei den Tieren handelte es sich um Sandy Lop und Neuseeländer Kaninchen sowie um mischrassige Tiere vom Bundesgesundheitsamt für Veterinärmedizin (Berlin 45, Unter den Eichen 82). Das Gewicht lag zwischen 2,5 und 3,0 kg. Es handelte sich ausschließlich um männliche Tiere.

2.2.3. Tierhaltung

Die Tiere wurden in Einzelkäfigen im Versuchstierhaus des Klinikums Charlottenburg gehalten. Die Fütterung erfolgte mit Altromin-Standard-Diät für Kaninchen, Möhren und Wasser ad libitum. Um Standorteinflüsse als Ursache für die hohe Todesrate auszuschließen, wurde ein Teil der Tiere zwischenzeitlich in ein zweites Tierlabor des Klinikums verlegt. Infektionskrankheiten traten nicht auf.

2.2.4 Narkose und Operationstechnik

Die Narkose für die Splenektomie sowie für die FDA-Gaben erfolgte durch intramuskuläre Injektion von 75 mg Ketanest^{R} und 10 mg Rompun^{R}. Zum Töten der Tiere wurden 1oo mg Ketanest^{R} intracardial injiziert. Die Milzexstirpation wurde auf folgende Weise durchgeführt:
Narkose, Rasur des Felles auf der Bauchseite, Desinfektion des Operationsgebietes mit Polyvidon-Jod 10%, Eröffnung des Abdomens mit einem ca. 5 cm langen Schnitt, Aufsuchen der Milz und deren Entfernung nach Ligatur der zu- und abführenden Gefäße (4-0 Catgut plain^{R}), Vernähen der Bauchdecken und oberflächliche Desinfektion mit Polyvidon-Jod 10%. Abdecken der Operationswunde mit Heftpflaster.

2.2.5 Injektion des Fluosol-DA 20%

Nach Narkotisierung der Tiere wie unter 2.2.4 wurde der linke Ventrikel punktiert (Abbocath^{R}G-18) und 30 ml Blut entnommen. Anschließend wurde das auf 35° C vorgewärmte Fluosol langsam intracardial injiziert. Analog verfuhr man mit NaCl für die Kontrolltiere.

2.3 Materialaufarbeitung

2.3.1 Fixierung und Einbettung

a. Lichtmikroskopie

I. Fixierung von Lunge, Leber und Milz in Schafferscher Lösung (96 ml

Methanol, 4 ml Glucose-Phophat-Puffer, 50 ml Formol 37%) für 24 Std. Danach weitere Lagerung für 24 Std. in Methanol und anschließende Einbettung in Methylmethacrylat. Nach 24-stündiger Aufbewahrung im Kühlschrank erfolgte die Polymerisierung im Brutschrank bei 30° C für 2-3 Tage. Anschließend wurden mit dem Hochleistungsmikrotom 3µ dicke Schnitte gefertigt und auf Gelatine-beschichtete Objektträger aufgezogen. Danach Entacrylierung und Färbung nach Masson-Goldner bzw. Giemsa.

II. Fixierung für 24 Std in Formalin, anschließende Wässerung; Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe (80%, 90%, absolut) und Xylol im Autotechnicon. Eingießen in Paraffinblöcke, Anfertigung von 3µ dicken Schnitten, Färbung mit Hämatoxylin/Eosin.

b. Elektronenmikroskopie

Fixierung der Gewebsproben in 5%igem Glutaraldehyd, dabei mit 1/15 molarem Phosphatpuffer pH-Einstellung auf 7,3, Osmierung der Blöcke mit 2%igem Osmiumtetroxid (Kontrastierung), Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe, Einbettung in Araldit, Polymerisierung bei 60°C für 48 Std., Nachkontrastierung mit 5%iger Äthanol- und Bleiacetatlösung nach Reynolds. Anfertigung von 0,08µ dicken Schnitten.

Die Semidünnschnitte (0,5µ) wurden mit Toloidinblau gefärbt.

c. Intra vitam Fixierung

Zur Abgrenzung etwaiger postmortaler pulmonaler Veränderungen wurde einem Versuchstier nach Narkose mit 50 mg Ketanest^{R}, 10 mg Rompun^{R} i.m. und nachfolgend 50 mg Ketanest^{R} intraperitoneal der Thorax eröffnet. Dann wurde ein Katheter (Abbocath^{R} G-18) über den rechten Ventrikel in den Truncus pulmonales vorgeschoben und die Lungen bis zur Blutleere mit isoosmolarem Phosphatpuffer perfundiert sowie die rechte mit Glutaraldehyd, die linke mit Karnowski-Lösung fixiert. Die weitere Verarbeitung erfolgte dann wie unter a. bzw. b.

2.3.2 Morphologische Untersuchung

Lunge, Leber und Milz wurden makroskopisch, licht- und elektronenmikroskopisch auf pathologische Veränderungen hin untersucht, von Leber und Milz wurde zusätzlich das Gewicht protokolliert.

2.3.3 Hämatokrit, Fluorokrit

Vor dem Töten der Tiere wurden 5 ml Blut abgenommen und der Hämatokrit sowie der Fluorokrit bestimmt. Letzterer ist, in Analogie zum Hämatokrit, eine Angabe über den prozentualen Anteil der PFC im Blut. Er läßt sich nach 10-minütiger Zentrifugation bei 2000 U/min im Hämatokritröhrchen als weiße Säule oberhalb der korpuskulären Blutbestandteile erkennen (Mitsuno 1981).

3.Ergebnisse

Nachdem sie sich zunächst nach der Fluosolinjektion schnell erholt hatten und anfangs unauffällig lebten,zeigten 28 Tiere eine deutliche Dyspnoe, verbunden mit Verminderung bzw. Einstellung der Nahrungs- und Wasseraufnahme und verendeten schließlich. Diese Symptome entwickelten sich im Durchschnitt 8-9 Tage nach der FDA-Gabe; im einzelnen schwankte die Zeit bis zum Exitus zwischen 1 und 16 Tagen (s. Abb. 5).

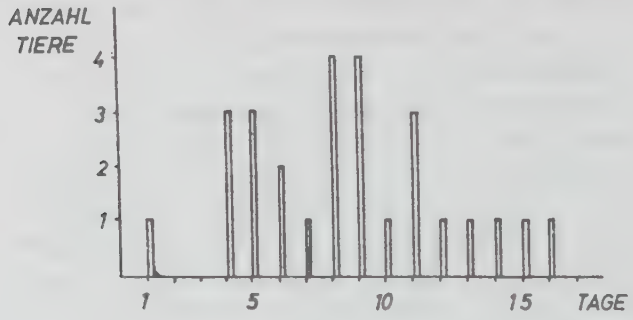


Abb. 5: Zeitraum des Exitus nach FDA-Gabe

Aus der Gruppe 1 starben 12 Tiere vorzeitig, ein Tier davon verendete durch Pericardtamponade 15 Min. nach FDA-Injektion. In Gruppe 2 betrugen die Ausfälle 9 und in Gruppe 3 8 Tiere.
Bei der Obduktion konnte man regelmäßig ein Emphysem und Anämie der Lungen feststellen, die bei Thoraxeröffnung nicht kollabierten. Zeichen einer deutlichen Dilatation waren am rechten Herzen zu sehen, sodaß wohl als Todesursache ein Rechtsherzversagen eintrat (s. Abb. 6).

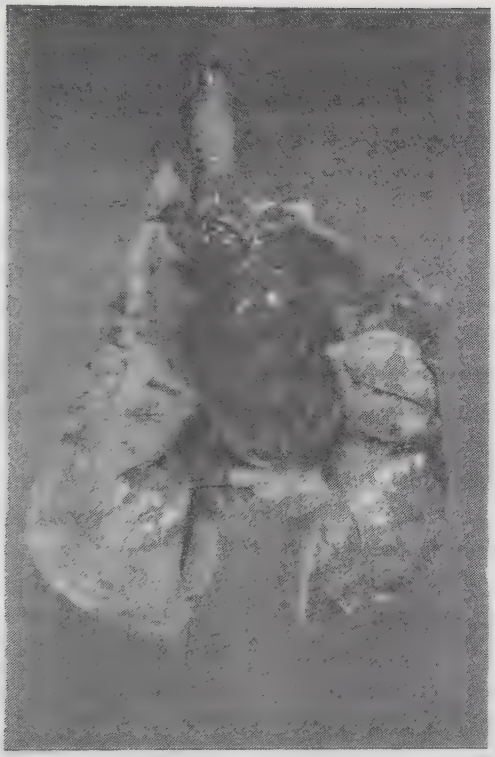


Abb. 6: Thoraxorgane eines mit FDA behandelten Tieres

Bei einigen Kaninchen fand sich ein enorm geblähter aber leerer Magen. Bis auf leichte Verwachsungen im oberen abdominellen Bereich bei den milzexstirpierten Tieren waren die übrigen Bauchorgane unauffällig.

3.1 Morphologie

3.1.1 Kontrolltiere

Milz und Lungen zeigten eine unauffällige Morphologie. Die Leber wies ebenfalls eine regelrechte Grundstruktur auf, jedoch war eine mittel-

bis grobtropfige Verfettung der Zellen erkennbar (Abb. 7, 10, 13)

3.1.2 Versuchstiere

Leber:

Makroskopisch war die Oberfläche mit millimetergroßen, grau-weiße länglichen Einlagerungen übersät, die sich auch beim Anschnitt auf de Schnittflächen darstellten.

Lichtmikroskopisch ließ sich eine Speicherung von FDA feststellen. I den Sinusendothelien fanden sich substanzspeichernde Makrophagen; auch in den Leberparenchymzellen waren Vakuolen zu sehen, bei dene jedoch nicht verifiziert werden konnte, ob sie durch FDA- ode Fetteinlagerung entstanden waren. Vereinzelt ließen sic Stauungszeichen erkennen.

Eine unterschiedliche Reaktion auf Fluosol war in den einzelne Versuchsgruppen nicht auszumachen (Abb. 11, 12).

Milz:

Makroskopisch ließen sich grau-weiße Herde unterschiedlicher Größ erkennen, die sich sowohl auf der Oberfläche, als auch im Anschnit zeigten.

Als Hauptspeicherorgan für Fluorocarbone sind die mikroskopische Veränderungen durch Substanzeinlagerung in der Milz besonder deutlich. Zahlreiche Speicherzellen mit kleinen Vakuolen besiedel vornehmlich die Pulpa. Auch in Bezug auf die Milz ließen sich kein versuchsgruppenspezifischen Veränderungen darstellen (Abb. 8, 9)

Lunge:

An den Lungen konnte man eine Vielzahl pathologischer Veränderunge beobachten.

Zunächst fielen die durch Überblähung verursachten Erscheinungen, daneben auch dystelektatische oder völlig kollabierte Bereiche au (Abb. 14, 15).

An einer großen Anzahl von Präparaten war ein interstitielles und

intraalveoläres Ödem zu erkennen (Abb. 16, 17). Ebenso sieht man auf einigen Schnitten subpleurale Auflagerungen von FDA (Abb. 18).
Die bei Kaninchen muskelstarken Pulmonalgefäße zeigten nach Fluosolgabe eine deutliche Vakuolisierung (Abb. 19, 20, 22). Bei stärkerer lichtoptischer oder elektronenoptischer Vergrößerung erkennt man, daß es sich dabei einerseits um die auch bei anderen Organen festgestellten Speicherphänomene, wie maulbeerartige Vakuolen oder Schaumzellen handelt (Abb. 9, 11, 12, 23, 25, 26), andererseits aber offensichtlich massive Muskelzellnekrosen vorkommen, die mit Kernkondensationen einhergehen (Abb. 24, 25, 26, 27).
Die durch Untergang von Muskelzellen entstandenen Räume sind z.T. leer, mitunter jedoch von optisch hellerem Material als es die intakten Zellen vorweisen ausgefüllt (Abb. 25, 26).
Da das Plasma der Muskelzellen bedingt durch ein intrazelluläres Ödem an den Hemidesmosomen abreißt, die die glatte Muskelzelle umgebenden Basalmembranen aber stehenbleiben, läßt sich an ihnen die ursprüngliche Ausdehnung des Protoplasmas erkennen (Abb. 26, 27).
Über diese Veränderungen an der Muscularis hinaus sieht man an den Gefäßen Endothelschäden. Fluosol lagerte sich darunter ab und bewirkte dabei z.T. wohl dessen Loslösung vom Gefäßrand (Abb. 21).
Im Bereich der Elastica interna kommt es zu Spaltbildungen, die entweder zwischen dieser und der Muscularis auftreten oder die Elastica selbst zu trennen scheinen (Abb. 28).
Wie es schon bei der Untersuchung von Leber und Milz zu beobachten war, sind auch für die Lunge keine Unterschiede in Verteilungsmuster oder Ausprägung der Schäden für die einzelnen Versuchsgruppen zu sehen.
Ein durch Pericardtamponade 15 Min. nach Fluosolgabe verendetes Tier zeigte die gleichen Veränderungen an der Lunge, wie die nach Tagen durch zunehmende Atemnot verstorbenen Kaninchen (Abb. 22).

3.2 Hämatokrit und Fluorokrit

Bei der Bestimmung von Hämatokrit und Fluorokrit zeigte sich, daß diese

Werte innerhalb relativ enger Grenzen schwankten und die Unterschiede innerhalb einer Gruppe z.T. größer waren, als es ein Vergleich aller drei Versuchsgruppen erkennen läßt.

Folgende Werte wurden im Einzelnen gemessen (Angaben in Vol%):

Gruppe 1

Hämatokrit: 28 30 29 30 27 27 29 29 31 28 29 MW: 28.8
Fluorokrit: 3 3 3 4 4 4 4 3 3 3 4

Gruppe 2

Hämatokrit: 32 32 24 30 29 26 24 28 31 MW: 28,4
Fluorokrit: 3 4 3 4 4 3 3 3 3

Gruppe 3

Hämatokrit: 28 29 28 30 29 30 28 28 MW: 28,7
Fluorokrit: 4 3 4 3 4 4 3 3

Gruppe 4

Hämatokrit: 41 42 41 42 MW: 41,5
Fluorokrit: entfällt

Gruppe 5

Hämatokrit: 40 37 42 MW: 39,0
Fluorokrit: entfällt

3.3 Leber- und Milzgewichte

Die Gewichte für Leber und Milz sind im Folgenden dargestellt (Angaben in g):

Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3		Gruppe 4		Gruppe 5	
Milz	Leber	Milz	Leber	Milz	Leber	Milz	Leber	Milz	Leber
1,3	115,3	2,1	113,6	1,9	117,0	1,1	93,7	2,0	96,4
1,6	129,0	1,9	127,0	2,5	126,0	1,5	101,6	1,8	119,7
1,9	126,4	1,7	129,8	1,0	117,5	1,2	97,8	0,9	58,5
1,4	109,2	1,6	121,0	2,0	124,0	2,1	83,0		
1,6	92,3	1,5	141,2	1,7	105,5				
1,5	110,0	1,9	111,9	1,8	113,7				
0,9	104,4	2,1	102,3	2,2	104,3				
1,6	98,2	1,8	134,3	0,8	98,6				
1,0	72,0	1,7	136,0						
1,3	87,1								
0,8	109,8								
Mittelwerte:									
1,3	104,8	1,8	124,1	1,7	113,3	1,5	94,0	1,5	91,5

Präparate (Abbildungen 7 - 28)

Abb. 7: Milz eines Kontrolltieres der 5. Gruppe. Regelrechte Organstruktur.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 8: Milz eines nach 8 Tagen verendeten Tieres der 2. Gruppe. Die Vakuolen sind als Substanzäquivalente in Makrophagen zu interpretieren.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 9: Milz eines Kaninchens der 2. Gruppe, das nach 9 Tagen verstarb. Zu erkennen sind Schaumzellen in gruppenförmig zusammenliegenden Makrophagen.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

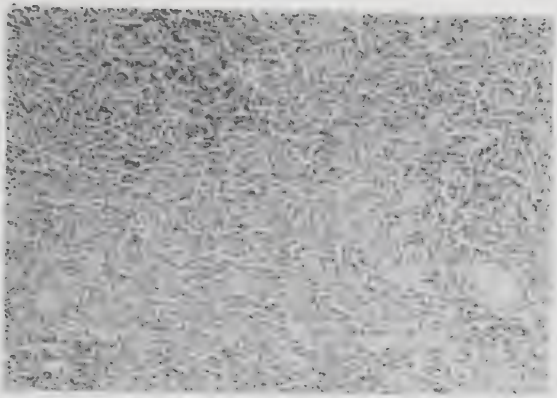


Abb. 7

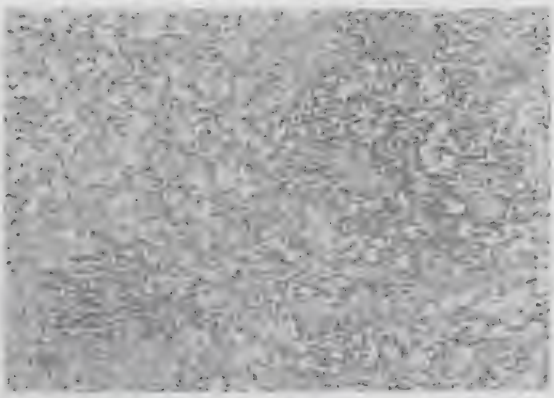


Abb. 8

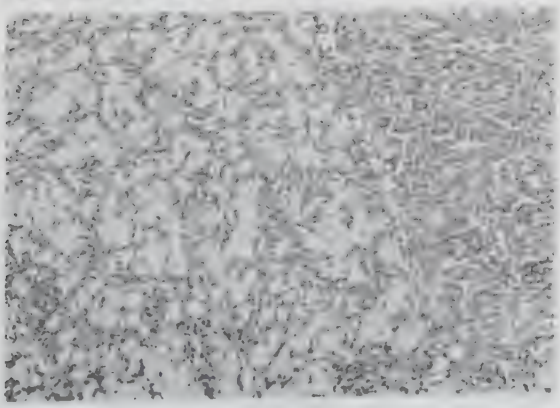


Abb. 9

Abb. 10: Leber eines Kontrolltieres der 4. Gruppe. Zu erkennen ist eine deutliche Verfettung.
(Methylmethacrylat; Objektiv 10x)

Abb. 11: Leber eines nach 5 Tagen verendeten Tieres der 1. Gruppe. Starke Substanzeinlagerung in den Sinusendothelzellen und in den Parenchymzellen. Dabei erkennt man die teilweise schaumige Struktur der Speicherzellen. Daneben sieht man Fettvakuolen.
(Methylmethacrylat; Objektiv 25x)

Abb. 12: In der rechten Bildhälfte sieht man Stauungsnekrosen in der Leber eines nach 9 Tagen verendeten Tieres der 2. Gruppe. Daneben sind Speicherzellen in den Sinusendothelien zu erkennen.
(Methylmethacrylat; Objektiv 10x)

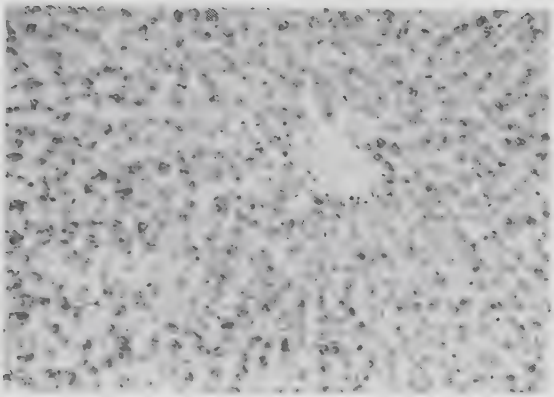


Abb. 10

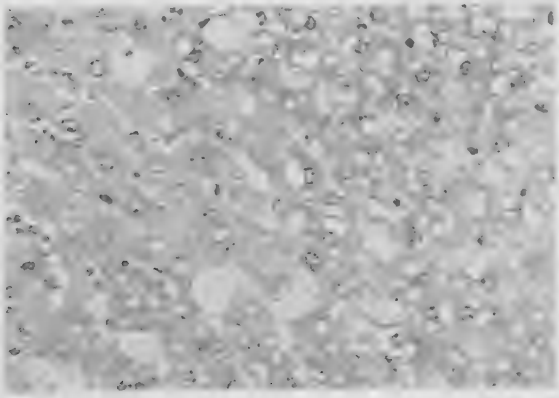


Abb. 11

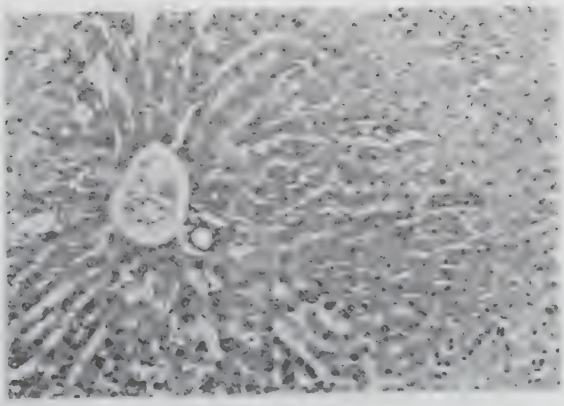


Abb. 12

Abb. 13: Lunge eines Kontrolltieres der 5. Gruppe. Regelrechte Struktur der Alveolen, sowie der Gefäße und des Bronchus.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 14: Vesikulöses Emphysem eines nach 9 Tagen verstorbenen Tieres der 3. Gruppe.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 15: Dystelektatischer Lungenabschnitt eines Tieres der 1. Gruppe, das nach 7 Tagen verstarb.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

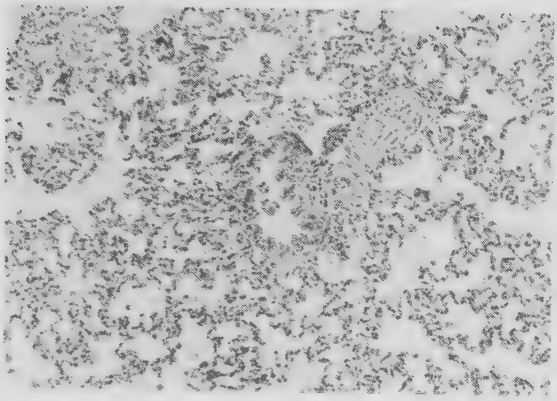


Abb. 13

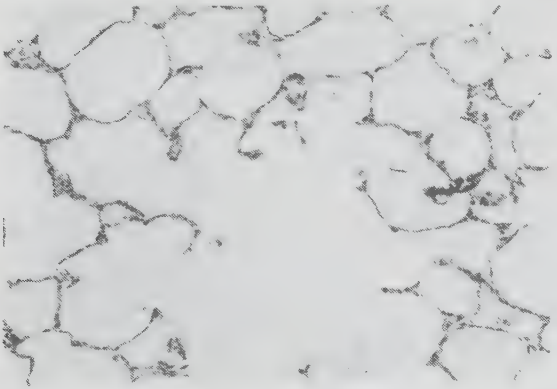


Abb. 14

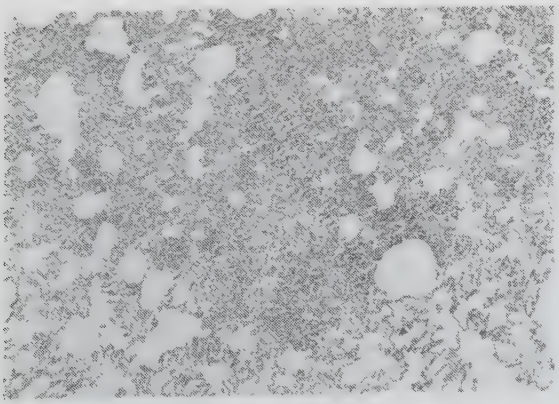


Abb. 15

Abb. 16: Deutlich ausgeprägtes interstitielles und intraalveoläres Ödem eines Kaninchens der 3. Gruppe. Überlebenszeit nach FDA-Gabe: 9 Tage.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 17: Perivaskuläres Ödem eines Tieres der 1. Gruppe, das nach 8 Tagen verstarb.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 18: Subpleurale Auflagerungen von FDA eines Tieres der 2. Gruppe, das nach 10 Tagen verstarb. Es handelt sich hierbei möglicherweise um bei der Injektion in den Pleuraspalt gelangtes Fluosol. Daneben sind Fibrinauflagerungen als Zeichen einer Pleuritis zu erkennen.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 4x)

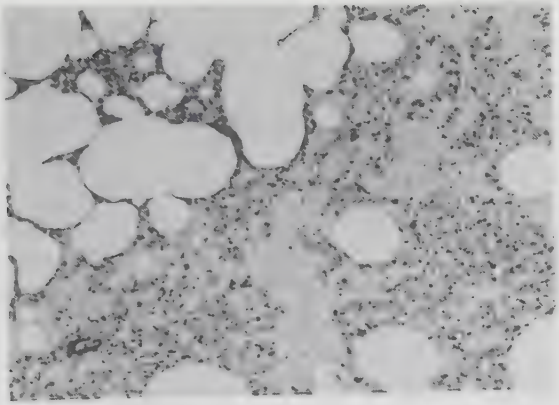


Abb. 16

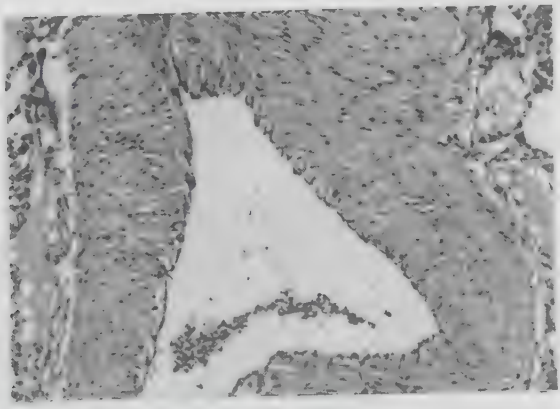


Abb. 17

Abb. 18

Abb. 19: Bronchialgefäß eines Kaninchens der 2. Gruppe. Überlebenszei
nach FDA-Gabe: 9 Tage. Vakuolisierung der Muscularis und der
Adventitia der Gefäßwand. Daneben auch intravasal befindliche
Fluosol.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 20: Bronchialgefäßwand eines 4 Tage nach FDA-Gabe verstorbenen
Tieres der 1. Gruppe. Starke Vakuolisierung der Muscularis.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 21: Endothelschäden eines nach 8 Tagen verendeten Tieres der 3.
Gruppe. Mit Vakuolen beladene, ins Lumen migrierende Makro-
phagen sind auf der rechten Bildhälfte zu erkennen.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 25x)

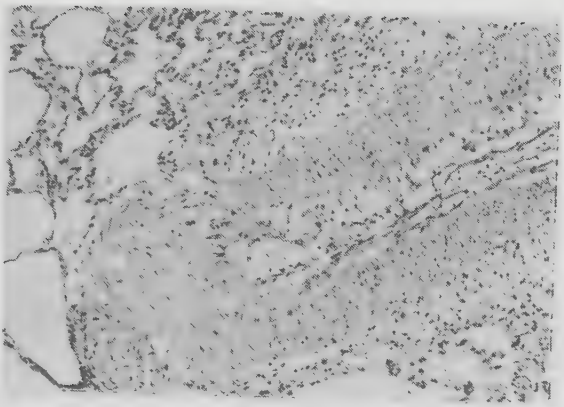


Abb. 19

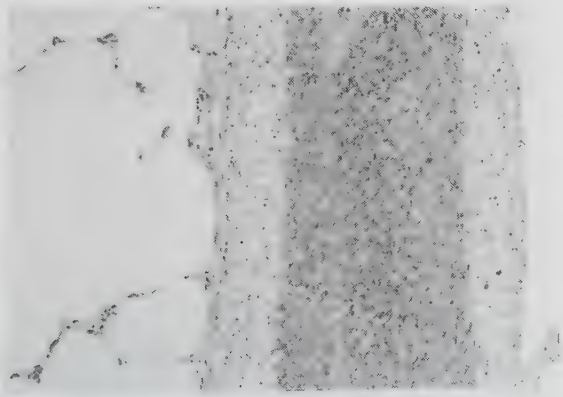


Abb. 20

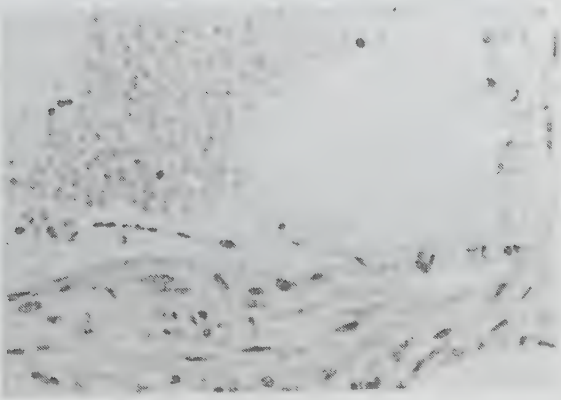


Abb. 21

Abb. 22: Starke Vakuolisierung und Spaltbildung in der Bronchialgefäß-
wand eines 15 Minuten nach FDA-Gabe durch Pericardtamponade
verendeten Tieres.
(Paraffinschnitt; HE; Objektiv 10x)

Abb. 23: Massenhaft Vakuolen als FDA-Speicherungsäquivalente eines
Makrophagen in der Bronchialgefäßwand. Überlebenszeit 13 Tage.
(6400x)

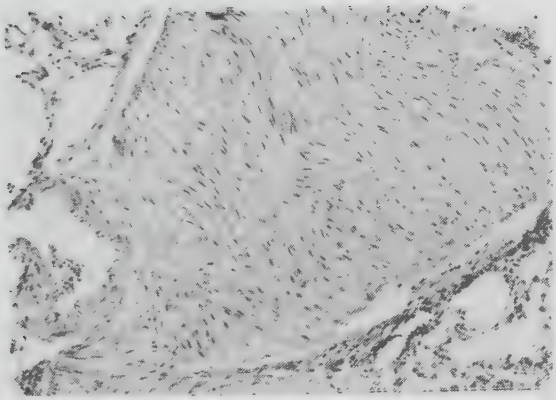


Abb. 22

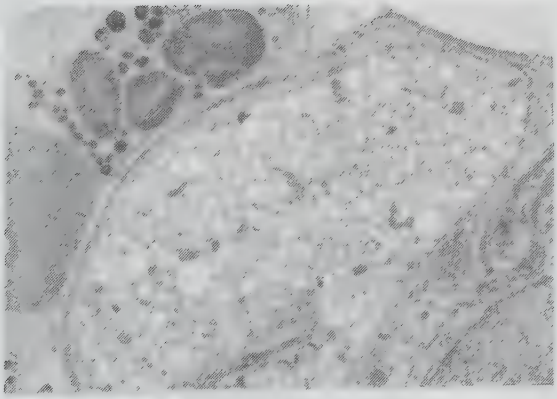


Abb. 23

Abb. 24: Zelluntergänge in der Muscularis eines Bronchialgefäßes. Oberlebeszeit 1$\frac{1}{2}$ Tage.
(8000x)

Abb. 25: Neben den optisch aufgehellten Zonen stattgehabter Zelluntergänge, finden sich Kernkondensationen und massenhaft Vakuolen, die z.T. Speicheräquivalente für Fluosol darstellen. Oberlebenszeit 8 Tage.
(6400x)

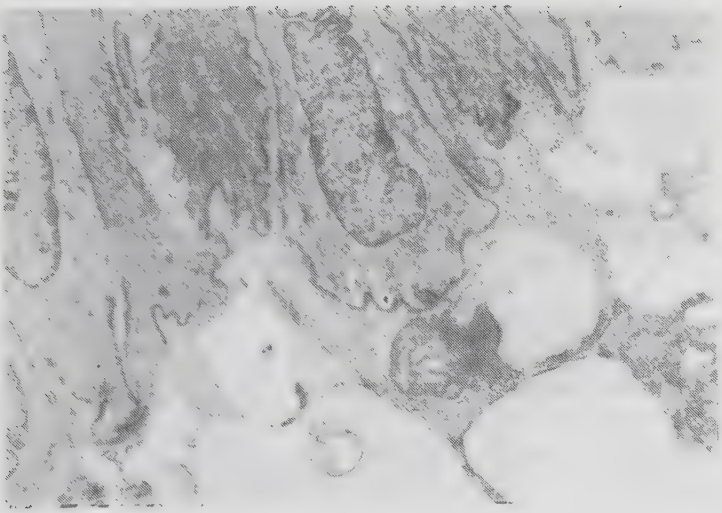


Abb. 24

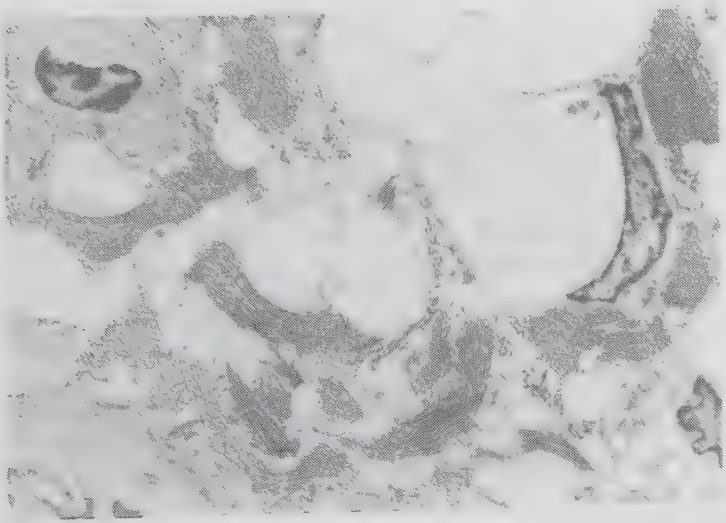


Abb. 25

Abb. 26: Nekrosen in der Muscularis eines Bronchialgefäßes. Man erkennt die die ursprünglichen Zellbegrenzungen darstellenden Basalmembranen als dunkle Brücken in optisch leeren Räumen.
Oberlebenszeit 8 Tage.
(6400x)

Abb. 27: Nekrotische Bronchialgefäßmuskelzelle; die Basalmembran als ehemalige Zellbegrenzung ist deutlich zu erkennen.
Oberlebenszeit 8 Tage.
(16000x)

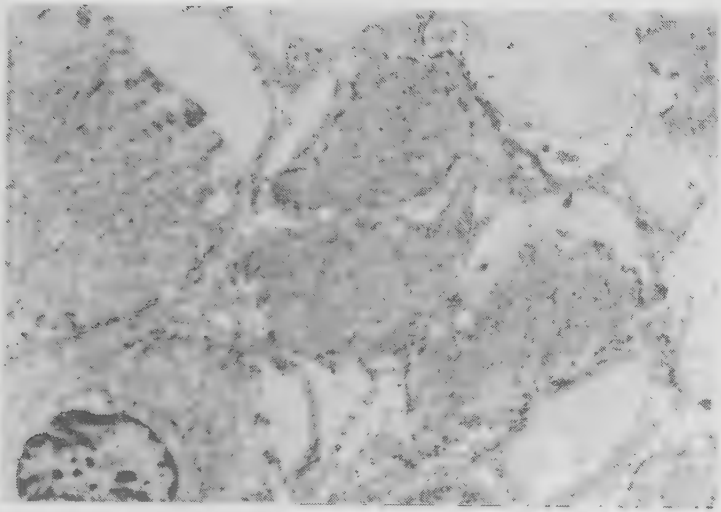


Abb. 26

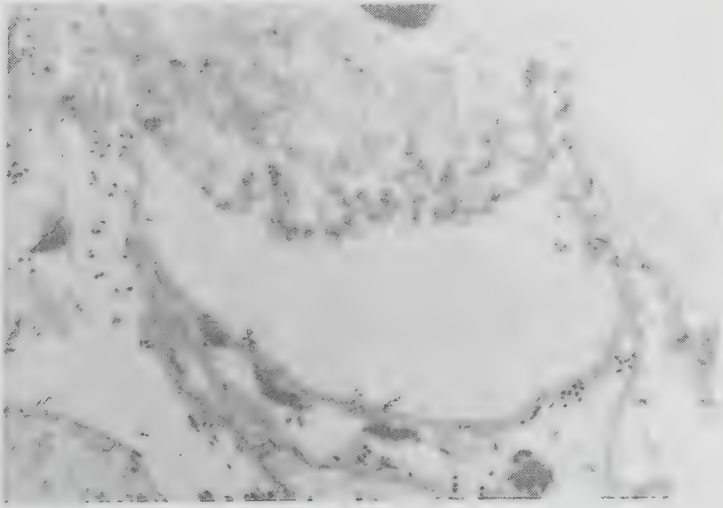


Abb. 27

Abb. 28: Zwischen der Muscularis und der Elastica interna kommt es zu Spaltbildungen. Oberlebenszeit 13 Tage.
(6400x)

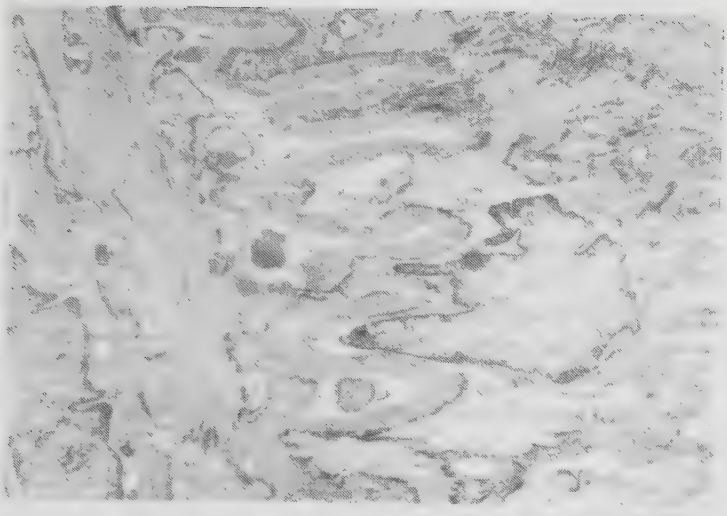


Abb. 28

4. Diskussion

4.1 Die pulmonalen Veränderungen als Todesursache

Die Beobachtungen über die Entwicklung der Tiere während der letzten Tage bzw. Stunden vor deren Exitus sowie die makroskopischen Sektionsbefunde lassen den Schluß zu, daß Vorgänge im kleinen Kreislauf die eigentliche Todesursache darstellen, die über eine pulmonale Hypertonie zur Dilatation des rechten Ventrikels und schließlich zum Rechtsherzversagen führten.

Andere Organe, deren Schädigung eine vitale Bedrohung darstellen könnte, wiesen keine oder nur geringe Veränderungen auf. So bleiben die Nieren offenbar von der Fluosol-Gabe ebenso unbeeinflußt wie der Gastro-Intestinal-Trakt.

Die geblähten Mägen einiger Tiere dürften, wie auch die Verwachsungen im Milz-Resektionsbereich, Folgen der Splenektomie sein. Sie waren nur bei den milzexstirpierten Tieren sowohl der Versuchs- als auch der Kontrolltiere zu beobachten. Pathogenetisch muß dabei in erster Linie an eine operationsbedingte Schädigung der gastralen Nervenversorgung mit folgender Atonie gedacht werden. Ein Verschluß des Magenausganges durch Briden ist weniger wahrscheinlich, da so gut wie kein Mageninhalt gefunden wurde.

Leber und, soweit sie nicht entfernt wurde, Milz zeigten die aus der Literatur bekannten makro- und mikroskopischen Befunde einer mehr oder weniger starken PFC-Speicherung ohne größere Schädigung des Parenchyms. Die bei einzelnen Tieren aufgetretenen Stauungsnekrosen in der Leber dürften für den letalen Ausgang keine Rolle gespielt haben, sondern eher Folge der Stauung bei Rechtsherzversagen sein. Ein Einfluß der Milzexstirpation auf das Überleben der Tiere ließ sich nicht feststellen.

4.2 Ätiologie der Strukturänderungen

Ein allergischer Mechanismus bis hin zu einer Serumkrankheit scheint nicht vorzuliegen, da weder Zeichen eines akuten Nierenversagens noch

sonstige Schockzeichen bei den Tieren auftraten. Auch ein protrahierter Schock als versuchsbedingte Ursache scheidet auf Grund der in Kapitel 3 geschilderten morphologischen Ergebnisse aus, da die Kontrolltiere nach NaCl-Injektion und Milzexstirpation den Versuch sämtlich gut überstanden.

Ebenso konnten für die in der Literatur bei älteren PFC beschriebenen Gasembolien keine morphologischen Korrelate gefunden werden. Darüberhinaus ist es unwahrscheinlich, daß sich solche Embolien erst nach 8-9 Tagen manifestieren und zum Tode führen. Für Perfluorotriäthylamin beschreibt Geyer (1978) tödliche Zwischenfälle dieser Art innerhalb einer Stunde nach Applikation des PFC.

Die physiologisch-patholgischen Reaktionen der Tiere sowie die überblähten Lungen und der dilatierte rechte Ventrikel lassen eine Occlusion der Lungengefäße als Ätiologie wahrscheinlich werden.

Die in Kapitel 1.4.4 aufgeführten entsprechenden Arbeiten von Sloviter (1970) und Colman (1980) beschreiben Perfusionsstörungen, die durch Thrombozytenaggregate hervorgerufen werden. Zu diesem Schluß kommen die Autoren auf Grund hämatologischer und biochemischer Parameter. Morphologische Untersuchungen dazu wurden nicht veröffentlicht und lassen sich in der übrigen Literatur auch nicht finden. In der hier vorliegenden Untersuchung fanden sich keine morphologischen Anhaltspunkte für pulmonale Störungen dieser Genese. Die von Grünert et al. (1981) an Schweinen beobachteten partiellen Verschlüsse der Lungenkapillaren durch vakuolenhaltige Makrophagen fanden wir auch. Sie waren jedoch eher die Ausnahme als die Regel und dürften deshalb bei der bekannten großen Kapazität des Lungenkreislaufs im Gegensatz zu der Ansicht oben genannter Autoren keine Rolle spielen.

Vielmehr muß eine direkte toxische Schädigung der Bronchialgefäße und insbesondere deren Muskulatur angenommen werden, die offenbar schon Minuten nach der Injektion auftreten kann, wie das Beispiel des durch Pericardtamponade verendeten Tieres annehmen läßt.

4.3 Pathogenese der Veränderungen

Die bei den Versuchstieren nach Fluosol-Injektion sichtbaren

Erscheinungen besonders der Muscularis der Lungengefäße können nicht nur als FDA-Speicherungsphänomene erklärt werden. Diese sind schon von Pfannkuch und Schnoy (1979, 1980) eingehend morphologisch untersucht und beschrieben worden als maulbeerartige Strukturen bzw. Schaumzellen. Darüberhinaus finden sich aber in der hier vorliegenden Arbeit massive Nekrosen der Gefäßmuskelzellen, ohne daß zu erkennen ist, daß die dadurch entstehenden Spalträume von PFC ausgefüllt werden. Es scheint sich hier nicht um eine intrazelluläre Einlagerung von Fluosol mit einem Verdrängungseffekt auf das Plasma der Zelle zu handeln. Die Annahme liegt vielmehr nahe, daß diese optisch leeren Räume durch ein intrazelluläres Ödem entstehen. Im Zusammenhang mit dem gehäuften Auftreten paravasaler Ödeme und Flüssigkeitsansammlungen im pulmonalen Parenchym läßt sich eine erhöhte Permeabilität des Gefäßendothels unter Fluosol-Einfluß vermuten. Damit ließen sich auch die, zwar in geringerer Ausprägung und Häufigkeit, aufgetretenden Stauungen in der Leber erklären, soweit sie nicht durch das Rechtsherzversagen verursacht wurden.

4.4 Die Problematik Spezies-abhängiger Phänomene

Daß in der Literatur über Fluosol-DA 20 % bisher keine Hinweise auf Schädigungen dieser Art beschrieben wurden, mag zum Einen daran liegen, daß Kaninchen nicht zu den hierfür bevorzugten Versuchstieren gehören, zum Anderen die Versuchsdauer unter der Zeit blieb, nach der die hier aufgezeigten Phänomene auftraten.

Möglicherweise stellen die Gefäße von Kaninchen ein besonders empfindliches Modell für die Behandlung mit fluorierten Kohlenwasserstoffen dar. So finden sich Hinweise bei Cohrs (1958) und Seifried (1937) über spontane arteriosklerotische und Aneurysma-ähnliche Bildungen bei dieser Tierspezies. Seifried beschreibt den Beginn dieser Entwicklungen mit dem Schwund und Gewebstod der Muskulatur, also analog den hier gefundenen morphologischen Beobachtungen.

Da nach Cohrs (1958) die normale Histologie der Blutgefäße mit der des Menschen sehr große Ähnlichkeit hat, ist eine Übertragbarkeit der Ergebnisse nicht auszuschließen.

In diesem Zusammenhang sei an die medikamentös durch Aminorexfumarat ausgelösten pulmonalen Hypertonien erinnert. Obwohl der genaue pathogenetische Mechanismus als nicht restlos geklärt angesehen werden kann, trat der Exitus als Folge einer diffusen Pulmonalsklerose, Intimafibrose und Hyalinose der Arteriolen mit Dilatation der Pulmonaläste und Cor pulmonale ein (Gurtner et al. 1968, Behrenbeck et al. 1969, Moeschlin 1980). Inwieweit es sich bei Fluosol um ähnliche Phänomene handelt, bleibt noch zu klären.

Dabei ist es denkbar, daß toxische Schädigungen nicht durch die notwendigen Komponenten der Fluorocarbonemulsionen, sondern vielmehr durch den geringen Prozentsatz an Verunreinigungen, z.T. fluorierte Homologe der jeweiligen PFC, die bei der derzeit üblichen Form der Synthese zwingend entstehen (Le Blanc, Riess 1982), auftreten.

5. Zusammenfassung

Unter den gegenwärtig verfügbaren synthetischen Stoffen zur Erythrozytensubstituion stellen die Fluorkohlenwasserstoffe auf Grund ihrer Fähigkeit zur reversiblen Gasbindung eine aussichtsreiche Substanzgruppe dar. Als Emulsionen sind sie zur parenteralen Verabreichung geeignet.

In standardisierter Form ist eine Zubereitung aus Perfluorodecalin und Perfluorotripropylamin als Fluosol - DA 20% erhältlich und seit Jahren Gegenstand umfassender Untersuchungen.

Die vorliegende Arbeit berichtet über tierexperimentelle Untersuchungen an Kaninchen.

Nach Anwendung von 60 ml Fluosol, entsprechend 4 g Fluorocarbonsubstanzen / kg Körpergewicht entwickelten, nach anfänglicher Erholung, 28 von 43 Tieren eine zunehmende Dyspnoe, verweigerten die Nahrungs- und Wasseraufnahme und starben zwischen dem 4. und 16. Tag. Lunge, Leber und Milz wurden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Bei der makroskopischen Begutachtung des Sektionsgutes zeigte sich eine deutliche Dilatation des rechten Herzventrikels. Leber und Milz waren im wesentlichen unauffällig, zeigten aber histologisch die bereits bekannten und beschriebenen Speicherungsphänomene nach Fluorocarbonanwendung. Die Lungen ließen eine Anämie sowie ein Emphysem erkennen; mikroskopisch fanden sich darüberhinaus intraalveoläre und interstitielle Ödeme. Die deutlichsten Veränderungen betrafen die Muscularis der Bronchialgefäße: neben Speicherungsphänomenen wiesen sie massive Zelluntergänge auf.

Ein Einfluß von Splenektomien auf das Überleben der Tiere ließ sich nicht feststellen.

Als Todesursache wird eine durch die Fluorocarbonemulsion bedingte Permeabilitätserhöhug und Endothelschädigung der Bronchialgefäße mit nachfolgender Ödementstehung, pulmonaler Hypertonie und schließlichem Rechtsherzversagen angenommen.

6. Literatur

Behrenbeck, D.W., Schaede, A., Grenzmann, M., Hellwig, H., Wagner, I., Hilger, H.H.: Therapie der pulmonalen Hypertonie kardialer, pulmonaler und vasculärer Genese mit wiederholten Druckmessungen in der Arteria pulmonalis.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 75: 443-447 (1969)

Blanc Le, M., Riess, J.: Artificial blood substitutes based on perfluorochemicals. in Banks, R.E. (ed): Preparation, properties and industrial applications of organofluorine compounds.
New York: John Wiley and Sons, S. 83-138, 1982

Cohrs, P., Jaffe, R., Meessen, H.: Pathologie der Laboratoriumstiere
Berlin: Springer, S. 1-17, 1958

Clark, L.C., Gollan, F.: Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure.
Science, 152: 1755-1756 (1966)

Clark, L.C., Kaplan, S.: The physiology of synthetic blood.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 60: 757 (1970)

Colman, R.W., Chang, I.K., Mukherij, B., Sloviter, H.A.: Effects of a perfluoro erythrocyte substitute on platelets in vitro and in vivo
J. Lab. Clin. Med., 95: 553-562 (1980)

Czekelius, P.: Does it seem promising to treat fetal hypoxia with oxygenated fluorocarbon? in Frey, R., Beisbarth, H., Stosseck, K. (eds): Oxygen carrying colloidal blood substitutes.
München: W. Zuckschwerdt , S. 261-265, 1981

Endrich, B.: Fluorocarbon emulsions as blood replacement fluid: Influence on the omental microcirculation.
J. Surg. Res., 29: 516-526 (1980)

Fujita, T., Sumaya, T., Yokoyama, K.: Fluorocarbon emulsions as a candidate for artificial blood.
Europ. Surg. Res., 3: 436-453 (1971)

Geyer, R.P.: Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersion.
Fed. Proc., Vol. 29, 5: 1758-1763 (1970)

Geyer, R.P.: Fluorocarbon-polyol artificial blood substitutes.
N. Engl. J. Med., 289: 1077-1082 (1973)

Geyer, R.P.: Perfluorochemical blood replacement preparations.
Proc. IVth Int. Symp. on perfluorochemical blood substitutes (Kyoto), 3-32 (1978)

Geyer, R.P.: Recent development in research with perfluorochemical artificial blood substitutes. in Frey, R., Beisbarth, H., Stosseck, K. (eds): Oxygen carrying colloidal blood substitutes.
München: W. Zuckschwerdt, S. 19-29, 1981

Geyer, R.P., Monroe, R.G., Taylor, K.: Survival of rats perfused with a fluorocarbon detergent preparation. in Norman, J.C. (ed): Organ perfusion and preservation.
New York: Century Crafts, S. 85-96, 1968

Grünert, A., Hirlinger, W.K., Herrmann, N., Petutschnigk, D.: Experiences with Fluosol in animal experiments. in Frey, R., H., Beisbarth, H.,Stosseck, K. (eds): Oxygen carrying colloidal blood substitutes. München: W. Zuckschwerdt, S. 86-90 ,1981

Gurtner, H.P., Gertsch, M., Salzmann, C., Scherrer, M., Stucki, P., Wyss, F.: Häufen sich die primär vasculären Formen des chronischen Cor pulmonale?
Schweiz. med. Wschr., 98: 1579-1589, 1695-1707 (1968)

Heinsen, H., Mottagly, K., Frömmel, M.: Pulmonary and systemic embolism after deliberate intravenous fluorocarbon administration. Virchows Arch. A (Pathol Anat.), 386: 331-341 (1980)

Kitazawa, M., Ohnishi, Y.: Long term experiment of perfluorochemicals using rabbits. Virchows Arch. A (Pathol. Anat.), 398: 1-10 (1982)

Lüdtke-Handjery, A.: Die Verwendung von Fluorocarbonen in der Humanmedizin als Blutersatz. Intensivmed., 14: 60-66 (1977)

Lutz, I., Bartel, U., Metzenauer, P.: Erhöhte Letalität im Endotoxinschock nach Anwendung von Perfluorocarbonen: Zeitverlauf und Modifikation durch Pharmaka (Vortrag Dt. Phys. Ges. Kiel). Pflüg. Arch., 384: 6 (1980)

Lutz, I., Metzenauer, P.: Effects of potential blood substitutes (PFC) in rat liver and spleen. Pflüg. Arch., 387: 175-181 (1980)

Mitsumo, T., Ohyanagi, H., Naito, R.: Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute. in Frey, R., Beisbarth, H., Stosseck, K.: Oxygen carrying colloidal blood substitutes. München: W. Zuckschwerdt, S. 30-40, 1981

Moeschlin, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen. Stuttgart: Thieme, 516-517 (1980)

Naito, R., Yokoyama, K.: Perfluorochemical blood substitutes, Fluosol-43, Fluosol-DA 20% and 35%. Techn. Inform. Ser. No. 5, The Green Cross Corporation, Osaka/Japan(1978)

Naito, R., Yokoyama, K.: Supplement to perfluorochemical blood substitutes Fluosol 43, Fluosol-DA 20% and 35%.
Techn. Inform. Ser. No. 7, The Green Cross Corporation, Osaka/Japan, 3 (1981)

Nishimura, N, Sugi, T., Hiranuma, N.: The effect of Fluosol-DA on pulmonary vessels.
Intern. Symp. on Blood Substitutes 29.7.- 1.8.82, San Francisco. in press

Ohnishi, Y., Kitazawa, M.: Application of perfluorochemicals in human beings.
Acta Pathol. Jpn., 30 (3): 483-504 (1980)

Pabst, R.: Sauerstofftransport mit stromafreien Hämoglobinlösungen und Fluorocarbonen.
Med. Klin., 72: 1555-1562 (1977)

Pfannkuch, F., Schnoy, N.: Verbleib des blutgastransportierenden Fluorkohlenwasserstoffes Fluorocarbon-43 im Organismus bei parenteraler Anwendung im Tierversuch.
Anästhesist, 28: 511-516 (1979)

Sakata, M., Kazama, H., Miki, A., Yoshida, A., Haya, M., Morita, M.: Acute toxicity of Fluorocarbon 22: Toxic symptoms, letal concentration and its fate in rabbits and mouse.
Toxicology and Applied Pharmacology, 59: 64-70 (1981)

Seifried, O.: Die Krankheiten des Kaninchens.
Berlin: Julius Springer (1937)

Schnoy, N., Pfannkuch, F.: Elektronenoptische Untersuchungen zur Fluorocarbon-Ausscheidung und Aufnahme in der Lunge.
Virchows Arch. B (Cell Path.), 34: 269-276 (1980)

Sloviter, H.A., Petkovic, M., Ogoshi, S.: Dispersed fluorochemicals as substitutes for erythrocytes in intact animals.
J. Appl. Physiol., 27: 666- 668 (1969)

Sloviter, H.A., Yamada, K., Ogoshi, S.: Some effects of intravenously administered dispersed fluorochemicals in animals.
Fed. Proc.,20, 1755-1757 (1970)

Schwieler, G.H:, Robertson: Liquid ventilation in immature newborn rabbits.
Biol. Neonate, 29: 343-353 (1976)

Tauber, A., Wendt, P., Mittlmeier, T., Stomatopoulos, C., Beisbarth, H., Maurer, P., Blümel, G.: Initial perfusion of extremities with Fluosol-43 prior to replantation. Metabolic and hämodynamic investigations in rabbits. in Frey, R., Beisbarth, H., Stosseck, K. (eds): Oxygen carrying colloidal blood substitutes.
München: W. Zuckschwerdt, S. 245-254, 1981

Vercellotti, G.M., Hammerschmidt, D.E., Craddock, P.R., Jacob, H.S.: Activation of plasma complement by perfluorocarbon artificial blood: Probable mechanism of adverse pulmonary reaction in treated patients and rationale for corticosteroid prophylaxis.
Blood, 59: 1299-1304 (1982)

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. S. Blümcke danke ich für die Überlassung des Themas und für die wissenschaftliche Beratung.

Herrn Dr. med. F. Pfannkuch möchte ich meinen besonderen Dank für die Betreuung und für seine wertvollen Ratschläge und Anregungen aussprechen.

Herrn Dr. med. vet. Ch. Grosse-Siestrup danke ich für die wichtige Unterweisung bei der Durchfürung der Tierversuche.

Bei Frau M. Panisch und Frau I. Weißleder bedanke ich mich für die kritischen Hinweise bei der praktischen Arbeit und die Mithilfe bei den Tierversuchen.

Mein Dank gilt Frau A. Popp und Frau B. Ossa für die Unterweisung und Herstellung der lichtmikroskopischen sowie Frau L. Maznain und Frau A. Bernsee für die Herstellung der Semi- und Ultradünnschnitte und Frau Tiburtius für die Anfertigung der photographischen Abzüge.

Lebenslauf

Am 5. März 1953 wurde ich als Sohn des Finanzbeamten Bernhard Schmidt und seiner Ehefrau Waltraud Schmidt in Berlin geboren.
Ich besuchte ab Ostern 1959 die 1. Grundschule in Berlin Tempelhof.
Von 1965 bis 1972 war ich Schüler des Luise-Henriette-Gymnasiums in Berlin, wo ich am 11. 1. 1972 die Reifeprüfung ablegte.
Im Sommer 1972 begann ich an der FU Berlin ein Biologie-Studium und legte am 16. 5. 1974 die Vorprüfung zur Diplomprüfung ab.
Vom Sommer 1974 ab belegte ich Geographie als zweites Fach.
Im Oktober 1978 begann ich das Medizinstudium ebenfalls an der FU Berlin.
Am 13. 12. 1978 schloß ich die Fächer Biologie und Geographie mit dem Staatsexamen ab.
Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 11. 9. 1980.
Die ärztliche Prüfung legte ich am 15. 10. 1984 ab.